

With respect to the expression "compound comprising an omega 9 series unsaturated fatty acid as a constituent fatty acid", the scope of such compounds is not clear and thus the expression is unclear.

Omega 9 series unsaturated fatty acids whose efficacy in the prevention or amelioration of liver diseases is suggested in the description are only those omega 9 series unsaturated fatty acid compounds specified in claim 4. The efficacy of other omega 9 series unsaturated fatty acid compounds cannot be stated as being supported in the description within the meaning of PCT Article 6 or disclosed therein within the meaning of PCT Article 5.

With respect to claims 6 and 7, in the description, only activity data on in-serum GPT and GOT are given, and no particular data supporting that the omega 9 series unsaturated fatty acid compound of the instant invention is effective in the prevention and treatment of liver diseases such as hepatitis and hepatocellular carcinoma is shown at all. Therefore, with respect to the effectiveness of omega 9 series unsaturated fatty acid compound in the prevention and treatment of liver diseases such as hepatitis and hepatocellular carcinoma, it cannot be stated as being supported in the description within the meaning of PCT Article 6 or disclosed therein within the meaning of PCT Article 5.

明 細 書

肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤

技術分野

本発明は、オメガ 9 系不飽和脂肪酸またはオメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を有効成分とする、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤、並びに肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物及びその製造方法に関するものである。より詳細には、オメガ 9 系不飽和脂肪酸、オメガ 9 系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド、さらにはリン脂質の群から選ばれた少なくともひとつを有効成分とする肝障害を伴う急性又は慢性肝炎、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌の予防又は改善剤、並びに予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物及びその製造方法に関するものである。

背景技術

ウイルスや各種毒性物質等により肝細胞破壊が進展する肝障害は、急性や慢性の肝炎、さらに、肝硬変、肝細胞癌などを引き起こす原因となる。特に急性肝炎は通常の肝炎に比して悪心、嘔吐、倦怠感などの自覚症状が激しく、高熱、白血球数増多、CRP 強陽性で黄疸も急激に増悪する事があり、時に早期の死に至るものとして知られている。また早期死に至らざるとも、慢性的な肝炎からは肝硬変や肝細胞癌に至る症例が極めて多く社会的な問題ともなっている。

肝炎の原因別にみると、肝細胞に特異的に感染するウイルス（A

型、B型、C型、D型、E型）が急性肝炎の原因として多く、中でもC型ウィルス性肝炎は、日本の慢性肝疾患の原因の大半を占めており、肝細胞癌の原因の実に90%を占める。自己免疫機序によって起こる肝障害を自己免疫性肝疾患といい、自己免疫性肝炎のほかに原発性胆汁性肝硬変（PBC）、原発性硬化性胆管炎（PSC）およびその類縁疾患を含む。

アルコールは、主に肝臓で代謝され、慢性的に摂取すると肝臓のさまざまな代謝系に影響を与え、高尿酸血症、高脂血症、高乳酸血症などを引き起こす。脂肪酸の代謝障害から中性脂肪の蓄積をきたしたり、炎症細胞を刺激して肝炎を惹起したり、大量の飲酒では重症アルコール性肝炎と呼ばれる予後不良の急性肝不全に陥ることもある。肝細胞への脂肪の蓄積は、飲酒によるアルコール性か肥満による過栄養性が原因であり、通常肝炎を惹起することはないが、時としてアルコール性肝炎に類似した炎症を伴い、まれに肝硬変にまで至る例が報告されている。

肝硬変はあらゆる慢性肝障害の終末像であり、長期間、肝細胞障害と再生を繰り返すうちに、肝臓全体に及ぶ線維化と再生結節が形成される。したがって、慢性の肝障害を示すすべての肝疾患が原因となり、肝細胞機能不全と門脈圧亢進症がみられる。日本における約40万人の肝硬変患者の病因のほとんどはウィルス性であり、特にC型肝炎ウィルスによるものが62%を、B型肝炎ウィルスによるものが15%を占めている。ウィルス性肝硬変には高率に肝細胞癌の発生がみられ、肝硬変の予後にも大きく影響している。その他の病因にはアルコール、薬物および中毒物質、自己免疫、胆汁うっ滞、循環障害、代謝異常、寄生虫などがある。

治療方法としては、原因回避可能なもの（アルコール性、薬剤性）では、原因回避が最も重要であるが、ウィルス性（HBV、HCV）で

は治療法は現在のところインターフェロンしかなく、その効果はH B Vではほとんど期待できず、HCVでも30～50%程度である。最近、B型慢性肝炎に対してはラブミジン（抗ウィルス剤）、C型慢性肝炎に対してはリバビリン（抗ウィルス剤）の併用が可能となり、新たな展開が見られる。一方ウィルスの駆除ができない例に対しては、肝障害の沈静化と肝硬変への進展抑制、発癌の二次あるいは一次予防を目的として、糖質コルチコイド、グリチルリチン製剤、ウルソデオキシコール酸などの投与が行われる程度である（薬局 Vol.54,増刊号, 2003）。従って、治療補助的なものである肝底護療法が主体となり、現在副作用のない有効な肝炎治療剤や肝炎誘発阻害剤はないのが現状である（MEDICAL DIGEST Vol.39(4), 1990）。

発明の開示

したがって、肝障害を伴う肝臓疾患を予防又は改善し、さらには食品への適応に優れた副作用のすくない化合物の開発が強く望まれている。

本発明者等は、上記の課題を解決するために種々研究の結果、優れた肝障害抑制作用を有し、肝障害を伴う肝臓疾患を予防又は改善し、食品への適応に優れたオメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を見出し、本発明を完成した。従って本発明者等は、オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を有効成分とする、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤、並びに肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物及びその製造方法を提供しようとするものである。

より詳細には、オメガ9系不飽和脂肪酸、オメガ9系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸と

するモノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド、さらにはリン脂質の群から選ばれた少なくともひとつを有効成分とする肝障害を伴う急性又は慢性肝炎、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌の予防又は改善剤、並びに予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物及びその製造方法を提供しようとするものである。

図面の簡単な説明

図 1 は、ガラクトサミン肝障害における肝機能マーカーに対するミード酸の効果を示すグラフである。図中、対照はコントロール食群を示し、N-3はDHA食群を示し、そしてN-9はミード酸食群を示す。GalN/LPS投与群はマウスを各15匹ずつ用い、生理食塩水投与群はマウスを各3匹ずつ用いた。

図 2 は、ガラクトサミン肝障害における生存率に対するミード酸の効果を示すグラフである。図中、対照はコントロール食群を示し、N-3はDHA食群を示し、そしてN-9はミード酸食群を示す。各群10匹ずつのマウスを用いた。

発明を実施するための最良の形態

本発明は、オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を有効成分とする、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤、並びに肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物及びその製造方法に関する。本発明の有効成分であるオメガ9系不飽和脂肪酸とは、脂肪酸のメチル端に最も近い二重結合が、メチル基から数えて第9番目の炭素と第10番目の炭素の間にあり、2つ以上の二重結合を有し、好ましくは炭素数18~22を有するものであって、例えば、6,9-オクタデカジエン酸（18:2 ω9）、8,11-エイコサジエン酸（20:2 ω9）及び5,

8,11-エイコサトリエン酸 (20:3 ω9) などを挙げることができ、これらはそれぞれ単独でまたは組み合わせて使用することができる。

。

また、天然に存在するオメガ9系不飽和脂肪酸は全てシス型であるため、本発明においてもシス型のオメガ9系不飽和脂肪酸を使用することが好ましい。

オメガ9系不飽和脂肪酸、例えば、5,8,11-エイコサトリエン酸 (20:3 ω9、「ミード酸」とも呼ばれる) 及び8,11-エイコサジエン酸 (20:2 ω9) は、必須脂肪酸欠乏に陥った動物組織の構成脂肪酸のひとつとして存在することが知られている。

これらの不飽和脂肪酸は生体内でロイコトリエン3グループの前駆体になることが可能で、その生理活性が大いに期待されており、「ロイコトリエンB4 (LTB4) による医学的症状の予防及び改善剤」(特開平07-041421)、「遅延型アレルギー反応を介する医学的症状の予防及び改善剤」(特開平08-053349)、「軟骨組織の異常に起因する疾患の予防又は治療薬」(W097-05863)が発明され、抗炎症、抗アレルギー、抗リウマチ及び変形性関節症への適応が報告されている。しかしながら、従来の知見からは、肝障害を伴う肝臓疾患の予防に対する作用を期待することはできず、本発明の肝障害モデル動物で評価することで初めて明らかとなった。

本発明の有効成分はオメガ9系不飽和脂肪酸であって、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするすべての化合物を利用することができる。オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物には、遊離脂肪酸の形態で用いることができるが、薬剤として許容されるオメガ9系不飽和脂肪酸塩、例えばナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、又は他のアルカリ金属塩、亜鉛塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などを挙げることができる。また、オメガ9系不飽

和脂肪酸の低級アルコールエステル、例えばオメガ9系不飽和脂肪酸メチルエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸エチルエステルなどを挙げるができる。また、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド、リン脂質、さらには糖脂質などを利用することができる。なお、本発明は上記に挙げたものに限定しているわけではなく、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするすべての化合物を利用することができる。

本発明に使用するオメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物の供給源は何であっても構わない。すなわちオメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を生成することができる微生物や、必須脂肪酸欠乏に陥った動物組織、必須脂肪酸欠乏に陥った動物培養細胞によって産生されたものであっても、化学的又は酵素的に合成されたものであっても、また天然物、例えば動物の軟骨から抽出・分離・精製されたものであっても構わない。

ただ、食品への適応を考えた場合には、オメガ9系不飽和脂肪酸はモノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリドやリン脂質の形態、特にトリグリセリドの形態にすることが望ましい。オメガ9系不飽和脂肪酸を含有するトリグリセリド（構成脂肪酸の一部又は全部がオメガ9系不飽和脂肪酸を含有するトリグリセリドと同義）の豊富な給源は存在していなかったが、本発明者等によりオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドを工業的に利用することが可能となり、肝障害モデル動物に供することで、本発明の有効成分の効果を初めて明らかにし、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善効果を有することを明確にした。

オメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂（トリグリセリド）を産生する微生物として、例えば、モルティエセラ（*Mortierella*）属

、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、サプロレグニア (Saprolegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に、変異処理を施して得られる、 $\Delta 12$ 不飽和化活性が低下または欠失した微生物を挙げることができる。

アラキドン酸生産能を有する微生物は、培地成分の炭素源からステアリン酸 (18:0) を生合成し、ステアリン酸は $\Delta 9$ 不飽和化酵素によってオレイン酸 (18:1 $\omega 9$) に、オレイン酸は $\Delta 12$ 不飽和化酵素によってリノール酸 (18:2 $\omega 6$) に、リノール酸は $\Delta 6$ 不飽和化酵素によって γ -リノレン酸 (18:3 $\omega 6$) に、 γ -リノレン酸は鎖長延長酵素によってジホモ- γ -リノレン酸 (20:3 $\omega 6$) に、ジホモ- γ -リノレン酸は $\Delta 5$ 不飽和化酵素によってアラキドン酸 (20:4 $\omega 6$) に変換される。しかし、 $\Delta 12$ 不飽和化酵素が阻害されると、 $\Delta 6$ 不飽和化酵素によって、オレイン酸から6, 9-オクタデカジエン酸 (18:2 $\omega 9$) が、鎖長延長酵素によって6, 9-オクタデカジエン酸から8,11-エイコサジエン酸 (20:2 $\omega 9$) が、そして $\Delta 5$ 不飽和化酵素によって8,11-エイコサジエン酸から5,8,11-エイコサトリエン酸 (20:3 $\omega 9$) が生合成される。

具体的には、オメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂 (トリグリセリド) を産生することができる微生物として、特開平5-91888号に記載されているアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素活性及び $\Delta 6$ 不飽和化酵素活性を有しかつ $\Delta 12$ 不飽和化酵素活性の低下または欠失した微生物、例

例えばモルティエセラ・アルピナSAM1861 (FERM BP-3590) (独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター (茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6) に1991年9月30日にブダペスト条約に基づき国際寄託された)、さらに、アラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 $\Delta 12$ 不飽和化酵素活性が低下または欠失し、かつ $\Delta 5$ 不飽和化活性、 $\Delta 6$ 不飽和化活性及び/又は鎖長延長活性の少なくとも一つがより高められた微生物、例えばモルティエセラ・アルピナSAM2086 (FERM BP-6032) (独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター (茨城県つくば市東1丁目1番地1中央第6) に1996年8月5日にブダペスト条約に基づき国際寄託された) (1996年8月5日に寄託された国内寄託FERM P-15766より1997年7月30日に国際寄託に移管された) を挙げるができるが、これら菌株に限定しているわけではない。

本発明に使用される菌株を培養する為には、その菌株の孢子、菌糸、又は予め培養して得られた前培養液を、液体培地又は固体培地に接種し培養する。液体培地の場合に、炭素源としてはグルコース、フラクトース、キシロース、サッカロース、マルトース、可溶性デンプン、糖蜜、グリセロール、マンニトール等の一般的に使用されているものが、いずれも使用できるが、これらに限られるものではない。

窒素源としてはペプトン、酵母エキス、麦芽エキス、肉エキス、カザミノ酸、コーンステイプリーカー、大豆タンパク、脱脂ダイズ、綿実カス等の天然窒素源の他に、尿素等の有機窒素源、ならびに硝酸ナトリウム、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム等の無機窒素源を用いることができる。この他に必要に応じリン酸塩、硫酸マグネシウム、硫酸鉄、硫酸銅等の無機塩及びビタミン等も微量栄養源として使用できる。これらの培地成分は微生物の生育を害しない濃

度であれば特に制限はない。実用上一般に、炭素源の総添加量は0.1～40重量%、好ましくは1～25重量%、窒素源の総添加量は0.1～20重量%、好ましくは1～10重量%として、培養開始時、又は、培養途中で総炭素量及び総窒素源量になるように炭素源及び窒素源を流加しても構わない。

オメガ9系不飽和脂肪酸生産菌の培養温度は使用する微生物によりことなるが、5～40℃、好ましくは20～30℃とし、また20～30℃にて培養して菌体を増殖せしめた後5～20℃にて培養を続けて不飽和脂肪酸を生産せしめることもできる。このような温度管理によっても、生成脂肪酸中の高度不飽和脂肪酸の割合を上昇せしめることができる。培地のpHは4～10、好ましくは5～9として通気攪拌培養、振盪培養、又は静置培養を行う。培養は通常2～30日間、好ましくは5～20日間、より好ましくは5～15日間行う。

さらに、オメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂（トリグリセリド）中のオメガ9系不飽和脂肪酸の割合を高める手立てとして、オメガ9系不飽和脂肪酸含有油脂に選択的加水分解を行ってオメガ9系不飽和脂肪酸高含有油脂を得ることもできる。この選択的加水分解に用いられるリパーゼはトリグリセリドの位置特異性はなく、加水分解活性は二重結合の数に比例して低下するため、高度不飽和脂肪酸以外の脂肪酸のエステル結合が加水分解される。そして、生じたPUFA部分グリセリド間でエステル交換反応が起こるなどして、高度不飽和脂肪酸が高められたトリグリセリドとなる（「Enzymatic Fractionation and Enrichment of n-9 PUFA」：J. Am. Oil Chem. Soc., 80, 37-42（2003））。

このように、オメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂（トリグリセリド）に選択的加水分解を行って得たオメガ9系不飽和脂肪酸を高含有する油脂（トリグリセリド）を本発明の有効成分とすること

ができる。本発明のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂（トリグリセリド）の全脂肪酸に対するオメガ9系不飽和脂肪酸の割合、具体的には6,9-オクタデカジエン酸（18:2 ω9）、8,11-エイコサジエン酸（20:2 ω9）及び5,8,11-エイコサトリエン酸（20:3 ω9）の群から選ばれた少なくとも1つ以上からなるオメガ9系不飽和脂肪酸は、他の脂肪酸の影響を排除する目的で高いほうが望ましい。

しかしながら、高い割合に限定しているわけではなく、実際には、食品に適応する場合にはオメガ9系不飽和脂肪酸の絶対量が問題になる場合もあり、20重量%以上、好ましくは30重量%以上、より好ましくは40重量%以上のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂（トリグリセリド）を実質的に使用することができる。さらには、5,8,11-エイコサトリエン酸（20:3 ω9）を10重量%以上、好ましくは20重量%以上、より好ましくは30重量%以上を含有する油脂（トリグリセリド）を実質的に使用することができる。

オメガ9系不飽和脂肪酸を含有する油脂は、オメガ9系不飽和脂肪酸を生成することができる微生物の培養菌体から、菌体を破壊し、必要に応じて乾燥させ、例えばn-ヘキサンなどによる有機溶媒抽出処理や超臨界炭酸ガス抽出処理によって得ることができる。また該油脂に加水分解及びエステル化操作を行うことにより、オメガ9系不飽和脂肪酸を含有する遊離脂肪酸混合物又は脂肪酸エステル混合物を得ることができる。さらに、該遊離脂肪酸混合物又は脂肪酸エステル混合物を、常法の尿素分画法、液々分配クロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィー等により、6,9-オクタデカジエン酸、8,11-エイコサジエン酸、5,8,11-エイコサトリエン酸の遊離脂肪酸又は脂肪酸エステルを純度80%以上で得ることができる。

なお、本発明の有効成分であるオメガ9系不飽和脂肪酸は、必ず

しも高純度精製品に限定しているわけではなく、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物、具体的には、オメガ9系不飽和脂肪酸を含有するトリグリセリド、ジグリセリド、モノグリセリド、リン脂質、糖脂質を使用することができる。さらに、該オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物をオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する遊離脂肪酸混合物又は脂肪酸エステル混合物を単独であるいは組み合わせて使用することができる。

本発明は、オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を有効成分とする、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤、並びに肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物及びその製造方法に関するものであって、本発明の対象となる肝障害を伴う肝臓疾患としては、例えばウィルス性肝炎、薬剤性肝炎、アルコール性肝炎や脂肪性肝炎などの原因による急性肝炎および慢性肝炎などが挙げられ、さらにこれらの肝炎が進行して発症すると考えられる疾患として、急性肝不全や、肝硬変、肝細胞癌などが挙げられる。

肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する飲食品の製造法にあっては、オメガ9系不飽和脂肪酸及び／又はオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を単独で、あるいはオメガ9系不飽和脂肪酸を実質的に含有しない、あるいは含有していても僅かな飲食品原料とともに配合することができる。

特に構成脂肪酸の一部又は全部がオメガ9系不飽和脂肪酸であるトリグリセリドの場合に、油脂（トリグリセリド）の用途に関しては無限の可能性があり、食品、飲料、化粧品、医薬品の原料並びに添加物として使用することができる。そして、その使用目的、使用量に関して何ら制限を受けるものではない。

例えば、食品組成物としては、一般食品の他、機能性食品、栄養

補助食品、未熟児用調製乳、乳児用調製乳、乳児用食品、妊産婦食品又は老人用食品等を挙げることができる。また医師の食事箋に基づく栄養士の管理の下に、病院給食の調理の際に任意の食品に本発明のオメガ9系不飽和脂肪酸及び/又はオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を加え、その場で調製した食品の形態で患者に与えることもできる。

油脂を含む食品例として、肉、魚、またはナッツ等の本来油脂を含む天然食品、スープ等の調理時に油脂を加える食品、ドーナッツ等の熱媒体として油脂を用いる食品、バター等の油脂食品、クッキー等の加工時に油脂を加える加工食品、あるいはハードビスケット等の加工仕上げ時に油脂を噴霧または塗布する食品等が挙げられる。さらに、油脂を含まない、農産食品、醗酵食品、畜産食品、水産食品、または飲料に添加することができる。さらに、機能性食品・医薬品の形態であっても構わなく、例えば、経腸栄養剤、粉末、顆粒、トローチ、内服液、懸濁液、乳濁液、シロップ等の加工形態であってもよい。

また本発明の組成物は、本発明の有効成分以外に、一般に飲食品、医薬品または医薬部外品に用いられる各種担体や添加物を含んでよい。特に本発明の有効成分の酸化防止を防ぐ目的で抗酸化剤を含むことが望ましい。抗酸化剤として、例えば、トコフェロール類、フラボン誘導体、フィロズルシン類、コウジ酸、没食子酸誘導体、カテキン類、フキ酸、ゴシポール、ピラジン誘導体、セサモール、グアヤコール、グアヤク酸、p-クマリン酸、ノルジヒドログアヤテチック酸、ステロール類、テルペン類、核酸塩基類、カロチノイド類、リグナン類などのような天然抗酸化剤およびアスコルビン酸パルミチン酸エステル、アスコルビン酸ステアリン酸エステル、ブチルヒドロキシアニソール（BHA）、ブチルヒドロキシトルエン（BHT

）、モノ-*t*-ブチルヒドロキノン（TBHQ）、4-ヒドロキシメチル-2,6-ジ-*t*-ブチルフェノール（HMBP）に代表されるような合成抗酸化剤を挙げることができる。

トコフェロール類では、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、 δ -トコフェロール、 ε -トコフェロール、 ζ -トコフェロール、 η -トコフェロールおよびトコフェロールエステル（酢酸トコフェロール等）、さらに、トコトリエノールを類縁化合物として挙げることができる。また、カロチノイド類では、例えば、 β -カロチン、カンタキサンチン、アスタキサンチン等を挙げることができる。

本発明の組成物は、本発明の有効成分以外に、担体として、各種キャリアー担体、イクステンダー剤、希釈剤、増量剤、分散剤、賦形剤、結合剤溶剤（例、水、エタノール、植物油）、溶解補助剤、緩衝剤、溶解促進剤、ゲル化剤、懸濁化剤、小麦粉、米粉、でん粉、コーンスターチ、ポリサッカライド、ミルクタンパク質、コラーゲン、米油、レシチンなどを含むことができる。添加剤としては、例えば、ビタミン類、甘味料、有機酸、着色剤、香料、湿化防止剤、ファイバー、電解質、ミネラル、栄養素、抗酸化剤、保存剤、芳香剤、湿潤剤、天然の食物抽出物、野菜抽出物などを含むことができるが、これらに限定しているわけではない。

本発明の有効成分を実際に飲食品に適用する場合には、食品に配合するオメガ9系不飽和脂肪酸の絶対量も重要となる。ただし、飲食品に配合する絶対量も、配合する飲食品の摂取量によって変化することから、構成脂肪酸の一部又は全部がオメガ9系不飽和脂肪酸であるトリグリセリドを含有するトリグリセリドを食品に配合する場合には、オメガ9系不飽和脂肪酸として0.001重量%以上、好ましくは0.01重量%以上、より好ましくは0.1重量%以上となるように配

合する。さらに、5,8,11-エイコサトリエン酸として、0.0003重量%以上、好ましくは0.003重量%以上、より好ましくは0.03重量%以上とすることができ、一般の製造法により加工製造することができる。

本発明の脂肪酸を含有する飲食品は、肝障害を伴う疾患に対する予防改善や健康維持を目的として、目安として1日あたり本発明の脂肪酸が0.001g～10g、好ましくは0.001g～5g、さらに好ましくは0.001g～2gの範囲で経口摂取されることが望ましい。

本発明の組成物を医薬品として使用する場合、製剤技術分野において慣用の方法、例えば、日本薬局方に記載の方法あるいはそれに準じる方法に従って製造することができる。

本発明の組成物を医薬品として使用する場合、組成物中の有効成分の配分量は、本発明の目的が達成される限り特に限定されず、適宜適当な配合割合で使用可能である。

本発明の組成物を医薬品として使用する場合、投与形態は、経口投与または非経口投与が都合よく行われるものであればどのような剤形のものであってもよく、例えば注射液、輸液、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、腸溶剤、トローチ、内用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、外用液剤、湿布剤、点鼻剤、点耳剤、点眼剤、吸入剤、軟膏剤、ローション剤、坐剤等を挙げることができ、これらを症状に応じてそれぞれ使用することができるが、特に、経口投与が好ましい。これら各種製剤は、常法に従って目的に応じて主薬に安定化剤、酸化防止剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。

本発明の組成物の投与量は、年齢、体重、症状、投与回数などにより異なるが、例えば、成人（約60kgとして）一日あたり本発明の

オメガ9系不飽和脂肪酸及び/又はオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を、オメガ9系不飽和脂肪酸換算として、通常約0.001g~20g、好ましくは0.01g~10g、より好ましくは0.05~5g、最も好ましくは0.1g~2gを一日1回-3回に分割して投与するのがよい。さらに、5,8,11-エイコサトリエン酸換算として、通常約0.0001g~10g、好ましくは0.001g~5g、より好ましくは0.01~2g、最も好ましくは0.05g~2gを一日1回-3回に分割して投与するのがよい。

本発明の有効成分である脂肪酸は、生体内で必須脂肪酸欠乏状態時に生合成される生体成分であることが知られており、7週令のICR雄性マウスに対し、2g/Kg/dayを2週間連投（経口投与）したところ、何ら異常な症状は認められなかったことから安全性の面で優れているのは明らかである。

実施例

次に、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。しかし、本発明は、実施例に限定されない。

参考例1. オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドの製造方法

グルコース4%及び酵母エキス1%を含む培地（pH6.0）5Lを10Lジャーファーマンターに入れ、120℃で30分殺菌した。モルティエラ・アルピナ（*Mortierella alpina*）の突然変異株SAM1861またはSAM2086の前培養液100mlを接種し、通気量1vvm、攪拌数300rpm、8日間の通気攪拌培養を行った。培養温度は、培養開始時は28℃で、培養2日目より20℃に下げて行った。培養1日目から4日目まで毎日1%のグルコースを添加した。

培養終了後、ろ過、乾燥によりオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂

脂肪酸とする菌体を回収し、得られた菌体よりヘキサン抽出により油脂を取得し、食用油脂の精製工程（脱ガム、脱酸、脱臭、脱色）を経て、オメガ9系不飽和脂肪酸含有トリグリセリド（オメガ9系不飽和脂肪酸はトリグリセリドの任意な位置に結合）を得た。

得られた油脂（トリグリセリド）をメチルエステル化し、得られた脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで分析したところ、SAM1861株を培養した場合には、全脂肪酸に占める6,9-オクタデカジエン酸（18:2 ω9）、8,11-エイコサジエン酸（20:2 ω9）及び5,8,11-エイコサトリエン酸（20:3 ω9）の割合は、それぞれ12.94%、3.29%、16.83%であり、SAM2086株を培養した場合には、全脂肪酸に占める6,9-オクタデカジエン酸（18:2 ω9）、8,11-エイコサジエン酸（20:2 ω9）及び5,8,11-エイコサトリエン酸（20:3 ω9）の割合は、それぞれ12.41%、3.58%、20.87%であった。

さらに、上記オメガ9系不飽和脂肪酸含有油脂（トリグリセリド）をエチルエステル化し、5,8,11-エイコサトリエン酸エチルエステルを20%含む脂肪酸エチルエステル混合物から、常法の高速液体クロマトグラフィーによって、98%純度の5,8,11-エイコサトリエン酸エチルエステルを分離・精製した。

実施例 1. 肝障害モデル動物によるオメガ9系不飽和脂肪酸含有油脂の評価 1

4週齢雄性ddY系マウスにパーム油を8%（コントロール食）、参考例1で調製した6,9-オクタデカジエン酸（18:2 ω9）、8,11-エイコサジエン酸（20:2 ω9）及び5,8,11-エイコサトリエン酸（20:3 ω9）をそれぞれ12.94%、3.29%、16.83%の割合で構成脂肪酸とする油脂SUNTGM17を8%（ミード酸食）およびDHA22%を含む魚油5%とトリオレイン3%を混合したもの（DHA食）を添加した市販飼料を3週間与えた後、D-ガラクトサミン及びリポポリサッカラ

イドをそれぞれ800 mg/kg、25 μ g/kg になるように生理食塩水に溶解し混合したもの(GalN/LPS)を腹腔内投与した。GalN/LPS 投与6時間後に採血を行い、血清を分離し、血清中のGPT、GOT 活性を測定したところ、GalN/LPS 投与により肝障害が誘発されGPT、GOT 活性が上昇したが、ミード酸食群はコントロール食群及びDHA食群より有意に低く、ミード酸は明らかに肝障害を抑制し、その抑制効果はDHA よりも強力であることが確認された(図1)。

実施例2. 肝障害モデル動物によるオメガ9系不飽和脂肪酸含有油脂の評価2

4週齢雄性ddY系マウスにパーム油を8%(コントロール食)、実施例1と同様のSUNTGM17を8%(ミード酸食)、およびDHA22%を含む魚油5%とトリオレイン3%を混合したもの(DHA食)を添加した市販飼料を3週間与えた後、D-ガラクトサミン及びリポポリサッカライドをそれぞれ800 mg/kg、75 μ g/kg になるように生理食塩水に溶解し混合したもの(GalN/LPS)を腹腔内投与した。GalN/LPS 投与後、1時間毎に24時間後まで生存数を調べ、生存率を計算したところ、ミード酸食群の生存率は対照群、DHA食群に比べて有意に高値であった(図2)。

実施例3. 肝障害モデル動物による5,8,11-エイコサトリエン酸エチルエステルの評価

4週齢雄性ddY系マウスに、参考例1で調製した油脂SUNTGM17により精製した5, 8, 11-エイコサトリエン酸エチルエステル(ミード酸)10 mg/kgを1週間経口投与した後、D-ガラクトサミン及びリポポリサッカライドをそれぞれ800 mg/kg、25 μ g/kg になるように生理食塩水に溶解し混合したもの(GalN/LPS)を腹腔内投与した。GalN/LPS 投与6時間後に採血を行い、血清を分離し、血清中のGPT、GOT 活性を測定したところ、GOT 活性はコントロール食群で10

24±94 IU/Lであったのに比べ、ミード酸投与群では413±37 IU/Lと有意に肝障害が抑制されていることが確認された。

実施例 4. カプセル調製

ゼラチン100重量部及び食添グリセリン35重量部に水を加え50～60℃で溶解し、粘度2000cpのゼラチン被膜を調製した。次に参考例1で得たオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする油脂（トリグリセリド）にビタミンE油0.05重量%を混合し、内容物1を調製した。次に参考例1で得た98% 5,8,11-エイコサトリエン酸エチルエステルに、ビタミンE油0.05重量%を混合して内容物2を調製した。これら内容物1及び2を用いて、常法によりカプセル成型及び乾燥を行い、一粒200mgの内容物を含有するソフトカプセルを製造した。

実施例 5. 脂肪輸液剤への使用

参考例1で得たオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする油脂（トリグリセリド）400g、精製卵黄レシチン48g、オレイン酸20g、グリセリン100g及び0.1N苛性ソーダ40mlを加え、ホモジナイザーで分散させたのち、注射用蒸留水を加えて4リットルとする。これを高圧噴霧式乳化機にて乳化し、脂質乳液を調製した。該脂質乳液を200mlずつプラスチック製バッグに分注したのち、121℃、20分間、高圧蒸気滅菌処理として脂肪輸液剤とした。

実施例 6. ジュースへの使用

β-シクロデキストリン2gを20%エタノール水溶液20mlに添加し、ここにスターラーで攪拌しながら、参考例1で得たオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする油脂（トリグリセリド）（ビタミンEを0.05重量%配合）100mgを加え、50℃で2時間インキュベートした。室温冷却（約1時間）後、さらに攪拌を続けながら4℃で10時間インキュベートした。生成した沈澱を、遠心分離により回収し、n-ヘキサンで洗浄後、凍結乾燥を行いオメガ9系不飽和脂肪

酸を構成脂肪酸とする油脂（トリグリセリド）を含有するシクロデキストリン包接化合物 1.8 g を得た。この粉末 1 g をジュース 10 L に均一に混ぜ合わせ、オメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする油脂（トリグリセリド）を含有するジュースを調製した。

請 求 の 範 囲

1. オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を含んで成る、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤。

2. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物が、オメガ9系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド及び/又はトリグリセリド、あるいはリン脂質である請求項1に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤。

3. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、当該トリグリセリドを構成する全脂肪酸に対して20%以上のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する、請求項2に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤。

4. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸が、6,9-オクタデカジエン酸(18:2 ω 9)、8,11-エイコサジエン酸(20:2 ω 9)及び5,8,11-エイコサトリエン酸(20:3 ω 9)の群から選ばれた少なくとも1つである、請求項1～3のいずれか1項に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤。

5. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、モルティエレラ (Mortierella) 属、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、またはサプロレグニア

(Saprolegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 $\Delta 12$ 不飽和化活性が低下または欠失した微生物を培地中で培養し、その培養物から抽出して得られたものである請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤。

6. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性又は慢性肝炎である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の予防又は改善剤。

7. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の予防又は改善剤。

8. オメガ 9 系不飽和脂肪酸またはオメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を含んで成る、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物。

9. 前記オメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物が、オメガ 9 系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド及び/又はトリグリセリド、あるいはリン脂質である請求項 8 に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物。

10. 前記オメガ 9 系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、当該トリグリセリドを構成する全脂肪酸に対して 20% 以上のオメガ 9 系不飽和脂肪酸を含有する、請求項 9 に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物。

11. 前記オメガ 9 系不飽和脂肪酸が、6,9-オクタデカジエン酸 (18:2 ω 9)、8,11-エイコサジエン酸 (20:2 ω 9)、及び 5,8,11-エイコサトリエン酸 (20:3 ω 9) の群から選ばれた少なくとも 1 つである、請求項 8 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食品。

12. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、モルティエラ (Mortierella) 属、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、サプロレグニア (Saprolegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 $\Delta 12$ 不飽和化活性が低下または欠失した微生物を培地中で培養し、その培養物から抽出して得られたものである、請求項8～11のいずれか1項に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物。

13. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性又は慢性肝炎である、請求項8～12のいずれか1項に記載の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食品。

14. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌である、請求項8～12のいずれか1項に記載の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物。

15. 前記飲食物が、機能性食品、栄養補助食品、特定保健用食品又は老人用食品である、請求項8～14のいずれか1項に記載の肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物。

16. 肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する飲食物の製造法であって、オメガ9系不飽和脂肪酸及び/又はオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を、オメガ9系不飽和脂肪酸を実質的に含有しないかまたは僅にしか含有しない飲食品原料と配合することを特徴とする方法。

17. オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を対象に投与することを含んで成る、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善方法。

18. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物が、オメガ9系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド及び/又はトリグリセリド、あるいはリン脂質である請求項17に記載の方法。

19. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、当該トリグリセリドを構成する全脂肪酸に対して20%以上のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する、請求項18に記載の方法。

20. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸が、6,9-オクタデカジエン酸(18:2 ω 9)、8,11-エイコサジエン酸(20:2 ω 9)及び5,8,11-エイコサトリエン酸(20:3 ω 9)の群から選ばれた少なくとも1つである、請求項17~19のいずれか1項に記載の方法。

21. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、モルティエレラ (Mortierella) 属、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、またはサプロレグニア (Saprolegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 Δ 12不飽和化活性が低下または欠失した微生物を培地中で培養し、その培養物から抽出して得られたものである請求項17~20のいずれか1項に記載の方法。

22. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性又は慢性肝炎である、請求項17～21のいずれか1項に記載の方法。

23. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌である、請求項17～21のいずれか1項に記載の方法。

24. オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物を含む組成物又は飲食物を供与することを含んで成る、肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善方法。

25. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物が、オメガ9系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド及び/又はトリグリセリド、あるいはリン脂質である請求項24に記載の方法。

26. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、当該トリグリセリドを構成する全脂肪酸に対して20%以上のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する、請求項25に記載の方法。

27. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸が、6,9-オクタデカジエン酸(18:2 ω 9)、8,11-エイコサジエン酸(20:2 ω 9)、及び5,8,11-エイコサトリエン酸(20:3 ω 9)の群から選ばれた少なくとも1つである、請求項24～26のいずれか1項に記載の方法。

28. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、モルティエレラ (Mortierella) 属、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、サプロレグニア (Sapro-

olegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 $\Delta 12$ 不飽和化活性が低下または欠失した微生物を培地中で培養し、その培養物から抽出して得られたものである、請求項24~27のいずれか1項に記載の方法。

29. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性又は慢性肝炎である、請求項24~28のいずれか1項に記載の方法。

30. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌である、請求項24~28のいずれか1項に記載の方法。

31. 前記飲食物が、機能性食品、栄養補助食品、特定保健用食品又は老人用食品である、請求項24~30のいずれか1項に記載の方法。

32. 肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善剤の製造のための、オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物の使用。

33. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物が、オメガ9系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド及び/又はトリグリセリド、あるいはリン脂質である請求項32に記載の使用。

34. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、当該トリグリセリドを構成する全脂肪酸に対して20%以上のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する、請求項33に記載の使用。

35. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸が、6,9-オクタデカジエン酸(18:2 ω 9)、8,11-エイコサジエン酸(20:2 ω 9)及び5,8,11-エイコサトリエン酸(20:3 ω 9)の群から選ばれた少なくとも1つである、請求項32~34のいずれか1項に記載の使用。

36. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセ

リドが、モルティエレラ (Mortierella) 属、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、またはサプロレグニア (Saprolegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、 $\Delta 12$ 不飽和化活性が低下または欠失した微生物を培地中で培養し、その培養物から抽出して得られたものである請求項32～35のいずれか1項に記載の使用。

37. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性又は慢性肝炎である、請求項32～36のいずれか1項に記載の使用。

38. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌である、請求項32～36のいずれか1項に記載の使用。

39. 肝障害を伴う肝臓疾患の予防又は改善作用を有する組成物又は飲食物の製造のための、オメガ9系不飽和脂肪酸またはオメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物の使用。

40. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物が、オメガ9系不飽和脂肪酸のアルコールエステル、オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするモノグリセリド、ジグリセリド及び/又はトリグリセリド、あるいはリン脂質である請求項39に記載の使用。

41. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、当該トリグリセリドを構成する全脂肪酸に対して20%以上のオメガ9系不飽和脂肪酸を含有する、請求項40に記載の使用。

42. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸が、6,9-オクタデカジエン酸

(18:2 ω9)、8,11-エイコサジエン酸(20:2 ω9)、及び5,8,11-エイコサトリエン酸(20:3 ω9)の群から選ばれた少なくとも1つである、請求項39~41のいずれか1項に記載の使用。

43. 前記オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドが、モルティエレラ (Mortierella) 属、コニディオボラス (Conidiobolus) 属、フィチウム (Pythium) 属、フィトフトラ (Phytophthora) 属、ペニシリウム (Penicillium) 属、クラドスポリウム (Cladosporium) 属、ムコール (Mucor) 属、フザリウム (Fusarium) 属、アスペルギルス (Aspergillus) 属、ロードトルラ (Rhodotorula) 属、エントモフトラ (Entomophthora) 属、エキノスポランジウム (Echinosporangium) 属、サプロレグニア (Saprolegnia) 属に属しアラキドン酸生産能を有する微生物に変異処理を施して得られる、Δ12不飽和化活性が低下または欠失した微生物を培地中で培養し、その培養物から抽出して得られたものである、請求項39~42のいずれか1項に記載の使用。

44. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性又は慢性肝炎である、請求項39~43のいずれか1項に記載の使用。

45. 前記肝障害を伴う肝臓疾患が、急性肝不全、肝硬変及び/又は肝細胞癌である、請求項39~43のいずれか1項に記載の使用。

46. 前記飲食物が、機能性食品、栄養補助食品、特定保健用食品又は老人用食品である、請求項39~45のいずれか1項に記載の使用。

Fig.1

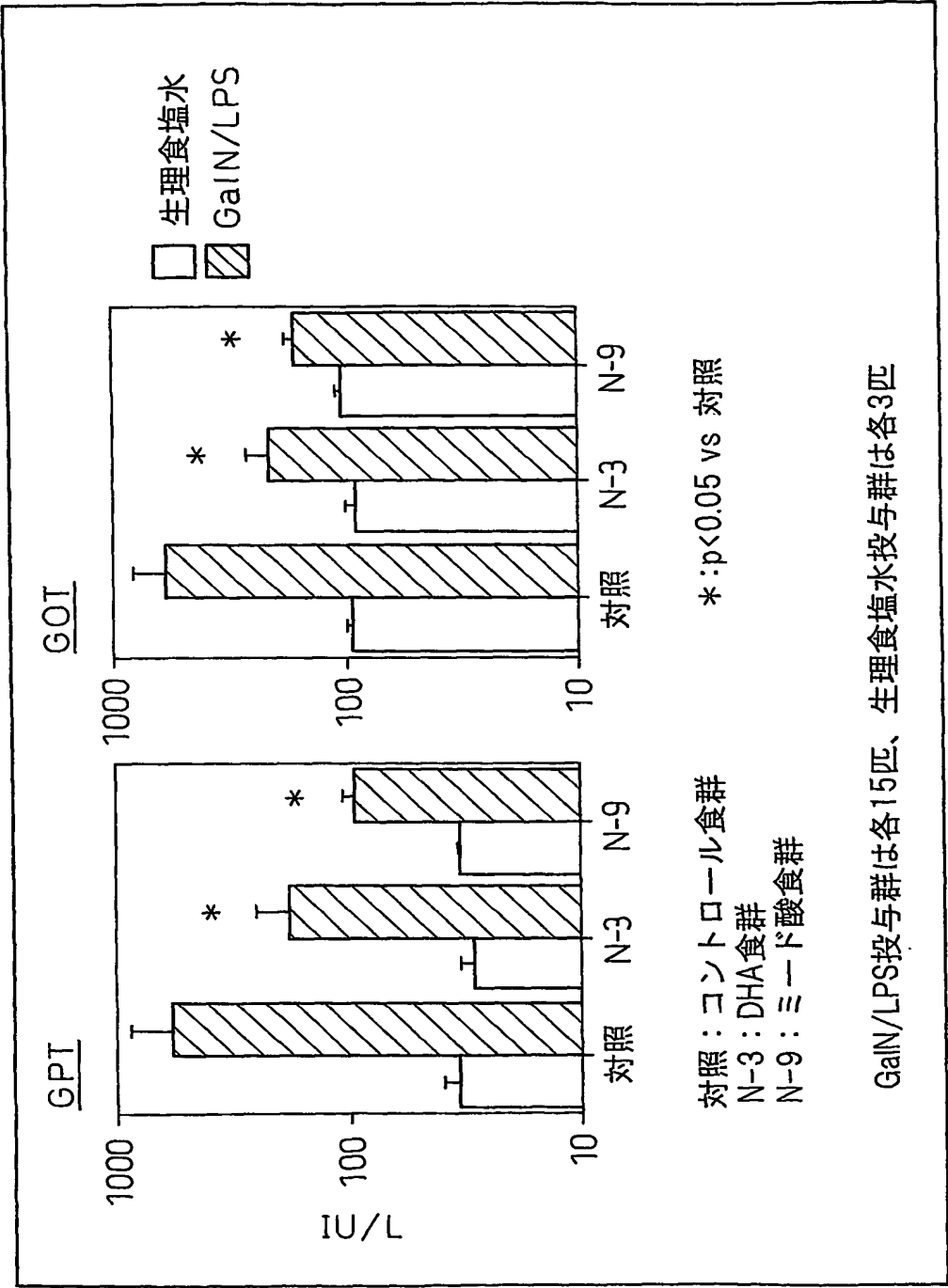
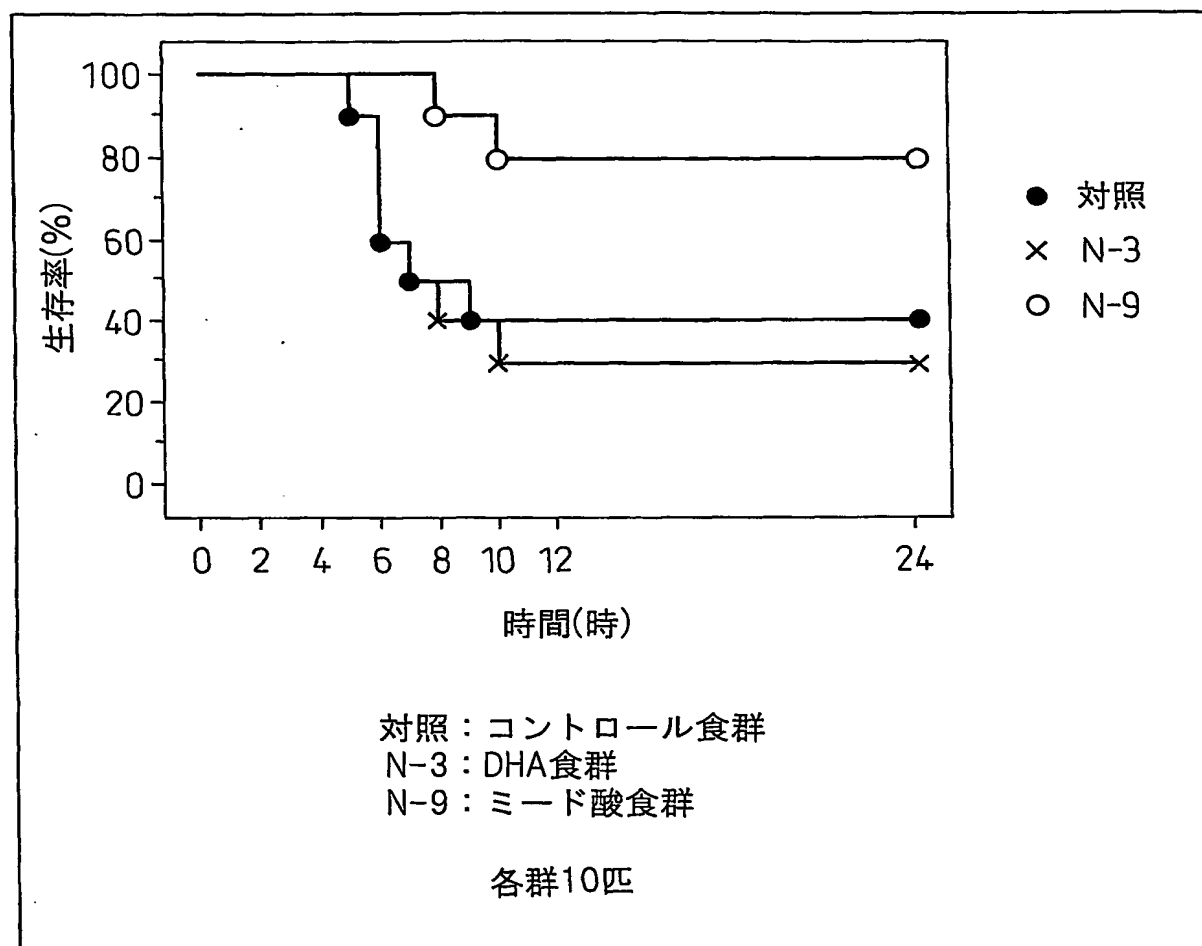


Fig.2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000941

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/231, A23L1/30, A61K31/232, A61P1/16, 35/00, C12P7/64

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/231, A23L1/30, A61K31/232, A61P1/16, 35/00, C12P7/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), BIOSIS/MEDLINE/EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 8-53349 A (Suntory Ltd.), 27 February, 1996 (27.02.96), Claims; Par. No. [0015] & US 5981588 A	1-6, 8-16, 32-37, 39-46
X	WO 1997/005863 A1 (Suntory Ltd.), 20 February, 1997 (20.02.97), Full text & EP 790056 A1	8-16, 39-46
X	WO 1999/048531 A1 (Nippon Shinyaku Co., Ltd.), 30 September, 1999 (30.09.99), Full text & EP 1064950 A1	1-3, 6, 32-34, 37

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
09 May, 2005 (09.05.05)

Date of mailing of the international search report
31 May, 2005 (31.05.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000941

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2003/004667 A1 (Suntory Ltd.), 16 January, 2003 (16.01.03), Full text (Family: none)	8-16, 39-46
X	JP 2002-53892 A (Kao Corp.), 19 February, 2002 (19.02.02), Claims; Par. Nos. [0001], [0052] & WO 2002/011551 A2	1, 2, 8, 9, 15, 16, 32, 33, 39, 40, 46
X	JP 7-508720 A (New England Deaconess Hospital Corp.), 28 September, 1995 (28.09.95), Claims; pages 5 to 6 & WO 1993/022271 A1	8-10, 13-16, 39-41, 44-46
X	K. HIRABAYASHI et al., Inhibition of Metastatic Carcinoma Cell Growth in Livers by Poly(I):Poly(C)/Cationic Liposome Complex(LIC), Oncol.Res., 1999, Vol.11, pages 497 to 504	1-3, 7-10, 13-15, 32-34, 38-41, 44-46
X	Tadashi HIGUCHI, "Hoshasei Iodine Hyoshiki Shibo Oyobi Shibosan ni yoru Shoka Kyushu Shiken", The Kyosai medical Journal, 1967 Nen, Vol.16, No.1, pages 27 to 32	8-10, 13-14, 39-41, 44-46
X	WO 2001/028555 A1 (LIPOCINE, INC.), 26 April, 2001 (26.04.01), Full text & US 2002/107265 A1	8-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/000941

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 17-31
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 17-31 relate to methods for treatment of the human body comprising treating liver diseases.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61K31/231, A23L1/30, A61K31/232, A61P1/16, 35/00, C12P7/64

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A61K31/231, A23L1/30, A61K31/232, A61P1/16, 35/00, C12P7/64

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), BIOSIS/MEDLINE/EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 8-53349 A (サントリー株式会社) 1996.02.27, 特許請求の範囲、15段落 & US 5981588 A	1-6, 8- 16, 32- 37, 39- 46
X	WO 1997/005863 A1 (サントリー株式会社) 1997.0 2.20, 全文 & EP 790056 A1	8-16, 3 9-46
X	WO 1999/048531 A1 (日本新薬株式会社) 1999.09.	1-3, 6,

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.05.2005

国際調査報告の発送日

31.5.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

渕野 留香

4P

9048

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	30, 全文 & EP 1064950 A1	32-34, 37
X	WO 2003/004667 A1 (サントリー株式会社) 2003.01.16, 全文 (ファミリーなし)	8-16, 3 9-46
X	JP 2002-53892 A (花王株式会社) 2002.02.19, 特許請求の範囲、1, 52段落 & WO 2002/011551 A2	1, 2, 8, 9, 15, 1 6, 32, 3 3, 39, 4 0, 46
X	JP 7-508720 A (ニュー イングランド ディーコネス ホスピタル コーポレーション) 1995.09.28, 特許請求の範囲、5-6頁 & WO 1993/022271 A1	8-10, 1 3-16, 3 9-41, 4 4-46
X	K. HIRABAYASHI et al., Inhibition of Metastatic Carcinoma Cell Growth in Livers by Poly(I):Poly(C)/Cationic Liposome Complex(LIC), Oncol. Res., 1999, Vol. 11, pp. 497-504,	1-3, 7- 10, 13- 15, 32- 34, 38- 41, 44- 46
X	樋口 忠、放射性ヨード標識脂肪および脂肪酸による消化吸収試験、共済医報、1967年、第16巻、第1号27-32頁	8-10, 1 3-14, 3 9-41, 4 4-46
X	WO 2001/028555 A1 (LIPOCINE, INC.) 2001.04.26, 全文 & US 2002/107265 A1	8-10

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 17-31 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲 17-31 は肝臓疾患の治療という人体の処置方法に関するものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

・「オメガ9系不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする化合物」なる記載では化合物自体の範囲が明確ではなく不明確である。

・明細書中に肝臓疾患の予防または改善に有用であることが示唆されているオメガ9系不飽和脂肪酸化合物は、請求の範囲4に記載の特定のオメガ9系不飽和脂肪酸化合物のみであって、他のオメガ9系不飽和脂肪酸化合物の有用性については、PCT6条の意味において明細書に裏付けられまた、PCT5条の意味において開示されているとはいえない。

・請求の範囲6, 7等に関し、明細書中には、単に血清中のGPTやGOTの活性データが示されているのみで、本発明のオメガ9系不飽和脂肪酸系化合物が肝炎や肝細胞ガン等の肝臓疾患の予防や治療に有効である点を裏付ける具体的なデータは何ら示されていない。したがって、オメガ9系不飽和脂肪酸系化合物が肝炎や肝細胞ガン等の肝臓疾患の予防や治療に有効である点については、PCT6条の意味において明細書に裏付けられまた、PCT5条の意味において開示されているとはいえない。